



TITLE:

Combination treatment with highly bioavailable curcumin and NQO1 inhibitor exhibits potent antitumor effects on esophageal squamous cell carcinoma(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Mizumoto, Ayaka

CITATION:

Mizumoto, Ayaka. Combination treatment with highly bioavailable curcumin and NQO1 inhibitor exhibits potent antitumor effects on esophageal squamous cell carcinoma. 京都大学, 2019, 博士(医科学)

ISSUE DATE:

2019-03-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21699>

RIGHT:

許諾条件により本文は2020-03-01に公開; The final publication is available at <https://link.springer.com/journal/535> (論文のURLは現在作成中)

京都大学	博士（医科学）	氏名	水本綾佳
論文題目	Combination treatment with highly bioavailable curcumin and NQO1 inhibitor exhibits potent antitumor effects on esophageal squamous cell carcinoma (生物学的利用能が高いクルクミンと NQO1 阻害剤の併用投与は食道扁平上皮癌に対し強い抗腫瘍効果を示す)		
(論文内容の要旨)			
<p>食道扁平上皮癌は 5 年生存率が約 4 割と低い難治性癌で、治療成績向上のための新規治療薬開発が望まれている。これまで様々な疾患の治療薬として植物性化学物質が着目されており、代表的な候補薬にクルクミンがある。クルクミンはウコンの成分で悪性腫瘍に対する有効性が実験的に示されている。しかしクルクミンは水に溶けにくく経口摂取してもほとんど吸収されずに排出されてしまうため、クルクミンの効能を最大限に引き出すためには吸収率の改善が最重要課題であった。そこでクルクミンを微細粒化して、水への分散性を向上させて体内へのクルクミン高吸収化を実現したセラクルミンが開発された。本研究では食道扁平上皮癌に対するセラクルミンの細胞傷害作用及び抗腫瘍効果について検討した。</p> <p>食道扁平上皮癌細胞に <i>in vitro</i> でセラクルミンを投与すると、濃度依存的な生存率低下が認められ、アポトーシスマーカーであるカスパーゼ活性化や PARP 切断が誘導された。またセラクルミンは食道扁平上皮癌細胞のコロニー形成やスフェロイド形成を抑制した。さらに食道扁平上皮癌細胞を免疫不全マウスに皮下移植した xenograft 腫瘍に対し、セラクルミンは高い腫瘍増殖抑制効果を示した。</p> <p>次にセラクルミンの抗腫瘍効果の作用機序を解明するため、活性酸素種量、活性酸素種による DNA 傷害 (8-OHdG) の測定、およびマイクロアレイ遺伝子発現解析を行った。セラクルミンは細胞内の活性酸素種量や 8-OHdG を増加させ、酸化ストレス応答経路である NRF2-NMRAL2P-NQO1 経路を活性化させた。ここで活性酸素種の除去に関与する NQO1 に着目し、セラクルミンの抗腫瘍効果における NQO1 の役割を明らかにするため、NQO1 のノックダウン細胞及び過剰発現細胞を作成し、セラクルミンによる細胞傷害作用の程度を検討した。NQO1 過剰発現細胞では 8-OHdG 形成やセラクルミンによる細胞傷害作用が抑制される一方、NQO1 ノックダウン細胞では 8-OHdG 形成やセラクルミンによる細胞傷害作用が増強した。さらに NQO1 阻害剤を投与すると、セラクルミンによる活性酸素種量や 8-OHdG の形成を促進し、食道扁平上皮癌細胞に対する細胞傷害作用が増強された。NQO1 はセラクルミン投与後に生じた活性酸素種に対し、抗酸化作用を発揮するために誘導されるが、NQO1 のノックダウンおよび阻害剤はその抗酸化作用を抑制するために、細胞内活性酸素種量が増加し、細胞傷害作用が増強されと考えられる。</p> <p>最後に食道扁平上皮癌患者由来の異種移植片(PDX)マウス腫瘍モデルを用いてセラクルミンと NQO1 阻害剤の併用治療の効果を検討した。セラクルミンと NQO1 阻害剤の併用投与は、セラクルミンまたは NQO1 阻害剤の単独投与よりも高い腫瘍増殖抑制効果を示した。免疫組織化学染色では、セラクルミンと NQO1 阻害剤の併用投与により増殖マーカーである Ki67 が減少し、アポトー</p>			

シスマーカーである ssDNA、酸化ストレスマーカーである 8-OHdG、さらに核内 NRF2 蛋白発現量、NQO1 蛋白発現量は増加した。
以上の結果により、セラクルミンは食道扁平上皮癌に対し有効な細胞傷害作用及び抗腫瘍効果を示すことが明らかとなった。さらに、セラクルミンの作用機序に基づき、セラクルミンと NQO1 阻害剤を併用投与すると活性酸素種量の産生増強とともに強い細胞傷害作用が誘導され、セラクルミンの抗腫瘍効果を増強させることが明らかとなった。
(論文審査の結果の要旨)
食道扁平上皮癌 (ESCC) は難治性癌であり、治療成績向上のために新たな治療法の開発が必要である。クルクミンはウコンの成分で、抗腫瘍効果を有することが実験的に示されてきたが、水溶性に乏しく生物学的利用能が低いという問題点があった。そこで水への分散性を向上させ体内へのクルクミンの高吸収化を実現したセラクルミンが開発された。申請者は ESCC に対するセラクルミンの抗腫瘍効果とその機序について検討した。
セラクルミンは ESCC 細胞に対しアポトーシス誘導、スフェロイド・コロニー形成抑制をもたらし細胞傷害を誘導した。また ESCC 細胞由来異種移植腫瘍に対しクルクミンよりも強い腫瘍増殖抑制効果を示した。セラクルミンは活性酸素種や活性酸素種由来の DNA 傷害 (8-OHdG) を増加させ、酸化ストレス応答経路である NRF2-NMRAL2P-NQO1 経路を活性化させた。NQO1 過剰発現細胞はセラクルミンによる 8-OHdG の産生を抑制し細胞傷害を抑制する一方、shRNA や阻害剤による NQO1 阻害はセラクルミンによる 8-OHdG の産生を増強し細胞傷害作用を亢進させた。さらに、セラクルミンと NQO1 阻害剤の併用治療は ESCC 患者由来異種移植(PDX)腫瘍に対し強力な抗腫瘍効果を示した。
以上の研究は ESCC に対するセラクルミンの抗腫瘍効果の機序解明に貢献し、ESCC に対する新たな治療法の開発に寄与するところが多い。
したがって、本論文は博士（医科学）の学位論文として価値あるものと認める。
なお、本学位授与申請者は、平成 31 年 3 月 5 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日 以降